

# KEVERÉKTAKARMÁNYOK FEHÉRJE- ÉS ZSIRADÉKTARTALMÁNAK EGYÜTTES MEGHATÁROZÁSA SPEKTROFOTOMETRIÁSAN

GÁBOR MIKLÓS<sup>\*</sup>—FÜLÖP LÁSZLÓNÉ<sup>\*</sup>—NIKLAJ ÁDÁM<sup>\*</sup>

Az ultraibolya tartományban történő fehérjetartalom meghatározás azon alapszik, hogy a fehérjeoldatok — a felépítő aromás aminosavak jelenlétéből kifolyólag — jellegzetes fényelnyelést mutatnak a 300—250 nm értékhatárok között. A fényelnyelés mértéke a fehérjekoncentrációval egyenesen arányos.

A zsiradéktartalom méréshez speciális reagenssel emulziót képezünk a megfelelő módon előállított oldatból, majd az emulzió koncentrációt mérjük, amely arányos a zsírtartalommal.

## 1. MINTAELŐKÉSZÍTÉS

Tekintettel arra, hogy a keveréktartományok többféle, különböző mechanikai tulajdonságú komponensből tevődnek össze, igen fontos a helyes mintavétel, valamint a minta előkészítése oly módon, hogy annak megfelelő kis reprezentatív mennyiségét őrlőmalomban teljesen megőröljük és 300  $\mu$  lyukbőségű szitán teljesen átszítáljuk, majd homogenizáljuk.

Vizsgálatainkat „Tojó 3. táp” keveréktakarmánnyal végeztük.

## 2. SPEKTROFOTOMETRIÁS MÉRÉSEK

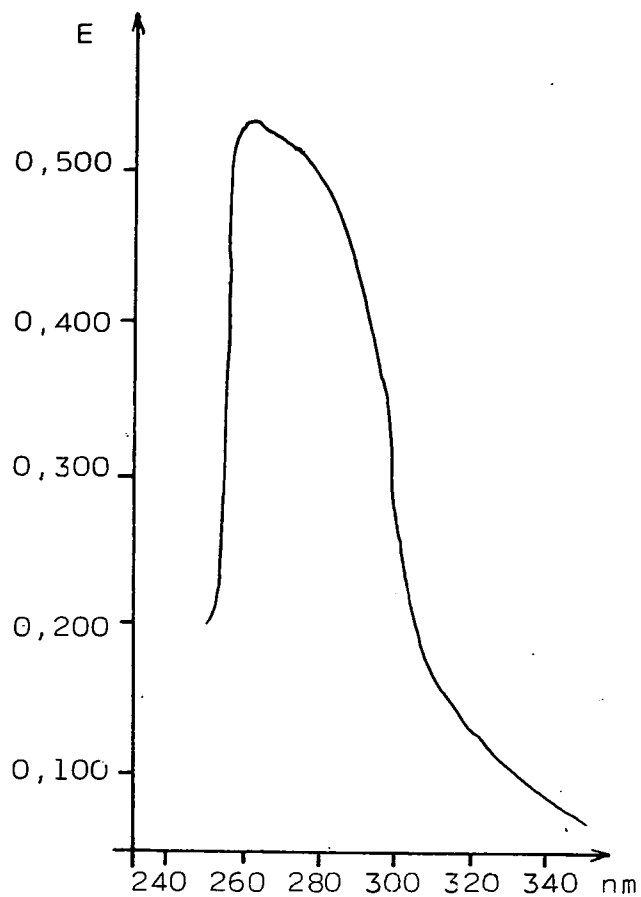
Mind a fehérjetartalmat, mind a zsiradéktartalmat egy speciálisan elkészített szuszpenzióból lehet meghatározni.

A homogenizált mintából 2,00 gramot mérünk be a Biomix edénybe. 1 cm<sup>3</sup> abszolút alkohollal megnedvesítjük, majd 100 cm<sup>3</sup>, 50 °C-ra felmelegített 0,1 n NaOH oldatot pipettázunk hozzá, s 5 percig kevertetjük 3. fokozaton. Az így nyert szuszpenziót használjuk mindkét vizsgálathoz, amelyekhez azonnal ki kell pipettázni a megfelelően mennyiségeket.

### 2.1. Fehérjetartalom meghatározás

1,00 cm<sup>3</sup> szuszpenziót 20 cm<sup>3</sup>-es csiszoltdugós kémcsőbe pipettázunk, ehhez 17,00 cm<sup>3</sup> 97 tf%-os ecetsavat adunk, majd összekeverés után 2,00 cm<sup>3</sup> diklór-metánt mérünk, egyneműsítés után kvantitatív szűrőpapíron szűrjük az oldatot. A kristálytiszta oldatot fotometriájuk a spektrum alapján nyert abszorpciós maximum értéken, 258 nm-en (**1. ábra**) Vakoldatban 1,00 cm<sup>3</sup> alkoholos lúg van a szuszpenzió helyett.

<sup>\*</sup> Kémiai Osztály



1. ábra

1. TÁBLÁZAT

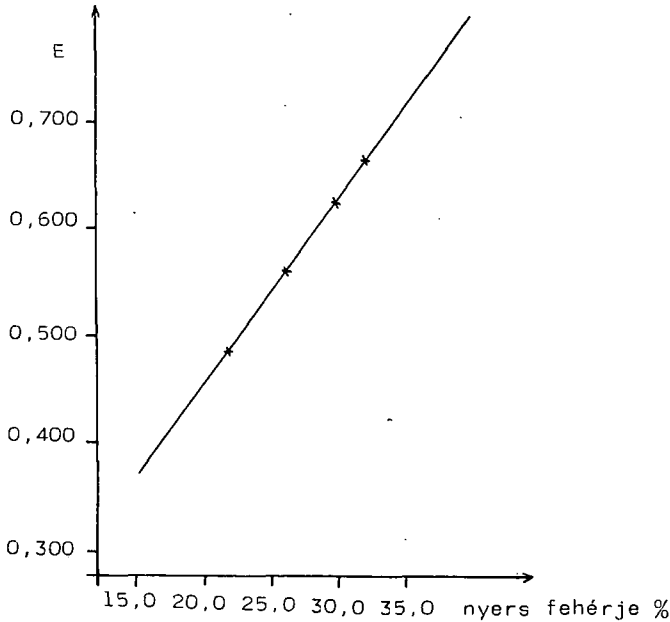
*Spektrofotometriás fehérjetartalom meghatározásához  
elvégzett kalibrációs mérések adatai*

| Minta összetétel              | Extinkció<br>(Kjeldahl) | Fehérje %<br>(Kjeldahl) |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1. Tojó 3.(90%)+hallszt (10%) | 0,619                   | 30,65                   |
|                               | 0,614                   | 30,65                   |
| 2. Tojó 3.(80%)+hallszt (20%) | 0,690                   | 34,85                   |
|                               | 0,685                   | 34,85                   |
| 3. Tojó 3.(80%)+premix (20%)  | 0,480                   | 22,19                   |
|                               | 0,483                   | 22,19                   |

A kapott extinkcióból *kalibrációs egyenes* szerkesztése vagy *regressziós egyenlet* számítása segítségével tudunk a fehérjetartalomra következtetni. Ehhez a vizsgált kevértakarmányból nagy fehérjetartalmú halliszt, illetve középintenzív broiler indító premix hozzákeverésével négy, különböző fehérjetartalmú mintát állítunk elő, s a mintákat spektrofotometriásan mérjük, illetve Kjeldahl szerint meghatározzuk fehérjetartalmukat. Az így nyert adatpárokból lehet a szerkesztést, illetve a regressziós egyenes számítását eszközölni.

Vizsgálataink során nyert adatokat az 1. táblázatban foglaltuk össze (5—5 párhuzamosok átlagai).

A kalibrációs egyenest a 2. ábra szemlélteti.



2. ábra

A regressziós egyenes általános egyenlete:

$$Y = a + bX,$$

$Y$  = a mért minta százalékos fehérjetartalma,

$X$  = a mért extinkció,

$A$  és  $B$  = konstansok.

Méréseink szerint az egyenes egyenlete:

$$Y = -7,4168 + 61,5740X.$$

$$Y = \frac{X - 0,1205}{0,0162}.$$

A bemérés (2,00 g), valamint a hígítások figyelembevételével a vizsgált anyag százalékos fehérjetartalma számítható:

$$\text{Fehérjetartalom, \%} = Y \cdot 50.$$

A *spektrofotometriás eljárás pontosságát* matematikai módszerrel értékeltük ki. A korrelációs koefficiens,  $r = 0,9995$ . Mivel  $r$  értéke megközelíti az egyet, a két módszer közötti összefüggés szoros. A *t-próba* számítás szerint:

$$t_{\text{számított}} = 1,414,$$

$$t_{\text{táblabeli}} = 5,84.$$

Mivel a  $t_{\text{táblabeli}} > t_{\text{számított}}$ , 99%-os valószínűségi szinten a két középérték között nincs szignifikáns különbség.

Az *F-próba* eredményei:

$$F_{\text{számított}} = 2,479,$$

$$F_{\text{táblabeli}} = 2,49.$$

Mivel  $F_{\text{táblabeli}} > F_{\text{számított}}$ , 95%-os valószínűségi szinten a két módszer szórási és korrigált szóráserkéke között az eltérés nem szignifikáns.

## 2.2. Zsiradéktartalom meghatározás

A 2. pontban leírtak szerint készített szuszpenzióból azonnal  $2,00 \text{ cm}^3$ -t pipettázunk  $10 \text{ cm}^3$ -es csiszolatos kémcsőbe,  $2,00 \text{ cm}^3$  diklórmétánnal összerázzuk, majd  $7,00 \text{ cm}^3$  97 ft%-os ecetsav adagolás után ismételten összerázzuk és kvalitatív szűrőpapíron szűrjük. A szűrlet  $2,00 \text{ cm}^3$ -hez  $2,00 \text{ cm}^3$  karbamid-imidazol reagenst ( $0,2 \text{ g}$  imidazol  $100 \text{ cm}^3$  20%-os karbamidoldatban oldva) adunk, homogenizálás után 30 percig állni hagyjuk, ezután fotometráljuk  $395 \text{ nm}$  hullámhosszon. Kompenzációs oldat a vizsgálandó oldatnak megfelelő összetételű, azzal az eltéréssel, hogy a szuszpenzió helyett megfelelő alkoholtartalmú  $0,1 \text{ n}$  NaOH oldatot pipettázunk be.

A kapott extinkcióértékből *kalibrációs egyenes* vagy *regressziós egyenlet* számítása segítségével lehet a zsiradéktartalomra következtetni. A 2.1. pontban feltüntetett, eltérő zsiradéktartalmú mintákat, a vizsgálandó minta mellett, megelemezük spektrofotometriásan és elvégezzük a Soxhlet szerinti zsiradékmeghatározást is, mint kontrollt. Az így nyert adatpárokból szerkeszthető a kalibrációs egyenes, illetve számítható a regressziós egyenlet.

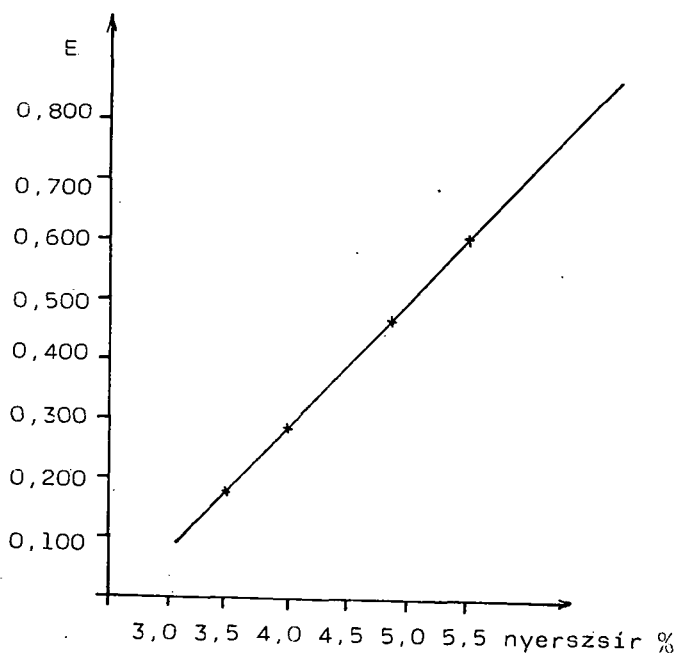
Vizsgálati adataink (5—5 párhuzamosból készített átlagokat) a 2. táblázatban foglaltuk össze,

### 2. TÁBLÁZAT

*A spektrofotometriás zsiradéktartalom meghatározás kalibrációjához felvett adatok*

| Mintaösszetétel                   | Extinkció | Zsiradék % (Soxhlet) |
|-----------------------------------|-----------|----------------------|
| 1. Tojó 3. (90%) + halliszt (10%) | 0,480     | 4,89                 |
|                                   | 0,470     | 4,89                 |
| 2. Tojó 3. (80%) + halliszt (20%) | 0,611     | 5,44                 |
|                                   | 0,600     | 5,44                 |
| 3. Tojó 3. (80%) + premix (20%)   | 0,160     | 3,46                 |
|                                   | 0,154     | 3,46                 |

A kalibrációs egyenest a 3. ábra szemlélteti.



3. ábra

A regressziós egyenes általános egyenlete a fehérjetartalom meghatározásnál ismerteknek megfelelő. A számított konstansok alapján az alábbiak szerint állítható fel:

$$Y = 2,7687 + 4,4346X,$$

$Y$  = a zsiradéktartalom, %,

$X$  = a mért extinkció.

$$Y = \frac{x + 0,6243}{0,2255}.$$

A spektrofotometriás eljárás pontosságát matematikai módszerrel értékeltük ki.

A korrelációs koefficiens,  $r = 0,9995$ .

Tekintettel arra, hogy ez az érték egyhez nagyon közel áll, a két módszer közötti összefüggést szorosnak vehetjük.

A  $t$ -próba eredménye:

$$t_{\text{számított}} = 0,186,$$

$$t_{\text{táblabeli}} = 5,84.$$

Mivel a  $t_{\text{táblabeli}} > t_{\text{számított}}$ , megállapítható, hogy 99 %-os valószínűségi szinten a két módszerrel kapott középértékek között nincs szignifikáns eltérés.

Az  $F$ -próba adatai:

$$F_{\text{számított}} = 0,110,$$

$$F_{\text{táblabeli}} = 2,49.$$

Mivel a táblabeli érték nagyobb, mint a számított, megállapítható, hogy 95%-os valószínűségi szinten a két módszerrel kapott szórás és korrigált szórás értékek között szignifikáns eltérés nincs.

### 3. ÖSSZEFOGLALÁS

A jelenleg fehérjetartalom, illetve zsiradéktartalom meghatározásra használt analitikai eljárások nagy hátránya, hogy igen időigényesek. Ebből kifolyólag még a tétel végermékellenőrzés is problémát okoz nemcsak a vállalati laboratóriumoknak, hanem más ellenőrző szervezeteknek is. A gyártásközi ellenőrzésre ezek a módszerek a fentiek alapján egyáltalán nem alkalmasak.

Az általunk kidolgozott és javasolt spektrofotometriás módszerek nagy előnye a kis időigény, a már meglévő kalibráció birtokában mintegy 20 perc alatt a fehérjetartalom és kb. 45 perc alatt a zsiradéktartalom százalékos értékeit megkaphatjuk.

A kalibrációt — azonos spektrofotometriás körülmények között — egyféle vizsgálendő anyagnál elegendő egyszer elvégezni.

A módszer előnye továbbá, hogy a fehérje és zsiradék két főkomponens mennyiségi ismeretében a víztartalomra is lehet következtetni (a rosttartalom ismeretében még nagyobb biztonsággal).

A látható és ultraibolya tartományban mérő spektrofotométert magyar cég állítja elő és ára lényegesen olcsóbb, mint a gyors fehérjetartalom mérésére kidolgozott egyéb műszereké.

### IRODALOM

1. MSZ—6830. Keveréktakarmányok kémiai vizsgálata, Magyar Szabványügyi Hivatal, (1980).
2. *Tomay, T.*: Gabonaipari kézikönyv, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest (1977).
3. Keveréktakarmányok zsiradéktartalmának meghatározása spektrofotométerrel (Jelentés a Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet megbízásából készített munkáról). Élelmiszeripari Főiskola Kémiai Osztály, (1980).
4. A gabonaipar által előállított keveréktakarmányok fehérjetartalmának spektrofotometriás meghatározása. (Jelentés a Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet megbízásából készített munkáról.) Élelmiszeripari Főiskola, Kémiai Osztály, (1980).

### SPECTROPHOTOMETRIC JOINT DETERMINATION OF PROTEIN AND FAT CONTENTS OF MIXED FODDERS

*Dr. Erzsébet Gábor, dr. Ágnes Fülöp and Ádám Niklai*

The spectrophotometric determination of the protein content is based on the fact that, due to the presence of the constituent aromatic aminoacids, protein solutions exhibit a characteristic absorbance in the UV: between 300 and 250 nm. The absorption is directly proportional to the protein concentration.

For the fat content determination, an emulsion is prepared with a special reagent from the appropriately pretreated solution, and the emulsion concentration is then measured; this is proportional to the fat content.

The great advantage of our proposed spectrophotometric methods is the low time requirement; if the calibration has been performed, the protein content can be obtained in about 20 min, and the fat content in about 45 min.

Under given spectrophotometric conditions, it is sufficient to perform the calibration once for a given type of material. A further advantage of the method is that, if the protein and fat contents are known, the water content too can be estimated (with even higher certainty if the fibre content is known).

## GEMEINSAME BESTIMMUNG DES EIWEISS- UND FETTGEHALTES DER MISCHFUTTER DURCH SPEKTROFOTOMETRIE

*Dr. Erzsébet Gábor, dr. Ágnes Fülöp, Niklai Ádám*

Den Grund zur Bestimmung des Eiweissgehaltes im Ultraviolett-Bereich bilden die Eiweisslösungen, die — infolge der anwesenden aromatischen Aminosäuren eine charakteristische Lichtabsorption im Bereich 300—250 nm zeigen. Der Mass der Lichtabsorption ist der Eiweisskonzentration direkt proportional.

Zum Messen des Fettgehaltes wird mit einem speziellen Reagens eine Emulsion aus einer Lösung, die entsprechender Weise hergestellt wird, gebildet und dann die Emulsionkonzentration gemessen, die dem Fettgehalt proportional ist.

Die von uns ausgearbeiteten und empfohlenen spektrofotometrischen Methoden haben den Vorteil, dass sie wenig Zeit in Anspruch nehmen; im Besitz der vorhandenen Kalibration kann der Eiweissgehalt etwa in 20, die prozentualen Werte des Fettgehaltes können ungefähr in 45 Minuten bestimmt werden.

Es genügt — unter gleichen spektrofotometrischen Umständen — die Kalibration für gleichartige Untersuchungs-materialien nur einmal zu verfertigen. Ein weiterer Vorteil dieser Methode besteht darin, dass man in quantitativer Kenntnis der zwei Hauptkomponenten, des Eiweisses und Fettes, auch den Wassergehalt folgen kann. (Mit noch grösserer Sicherheit in Kenntnis des Fasergehaltes).

## СОВМЕСТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА И ЖИРОВЫХ ПРОДУКТОВ КОМБИКОРМОВ СПЕКТРОФОТО- МЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Габор Мик лоне д-р—д-р Фюлеп Ласлоне—Адам Никлаи*

Определение содержания белка в ультрафиолетовом спектре основывается на том, что белковые растворители — вследствие присутствия ароматических веществ — аминокислот — показывают характерное светопоглощение в пределах величин 300—250 nm. Величина поглощения света прямо пропорциональна концентрации белков.

Для вычисления содержания жировых продуктов со специальным реагентом мы приготовили эмульсию из раствора, образованного соответствующим образом; а затем измерили концентрацию эмульсии, которая была пропорциональна содержанию жира.

Большое преимущество разработанных и рекомендуемых нами спектрофотометрических методов заключается в малой потребности во времени; зная уже имеющуюся калибрацию, почти за 20 мин можно вычислить процентные величины содержания белка, а за 45 мин — содержание жировых продуктов.

Калибрацию — в одних и тех же спектрофотометрических условиях — у одного исследуемого вещества достаточно провести один раз. Далее, преимущество метода в том, что зная количественную характеристику двух компонентов белка и жира, можно также определить и содержание воды (имея сведения о содержании волокна — еще с большей надежностью).